

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平8-233779

(43) 公開日 平成8年(1996)9月13日

(51) Int.Cl.<sup>5</sup>

G 0 1 N 27/447

識別記号

庁内整理番号

F I

G 0 1 N 27/26

技術表示箇所

3 1 5 D

3 2 1 Z

審査請求 未請求 請求項の数 1 O L (全 5 頁)

(21) 出願番号

特願平7-41029

(22) 出願日

平成7年(1995)2月28日

(71) 出願人 000001993

株式会社島津製作所

京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地

(72) 発明者 中村 伸

京都市中京区西ノ京桑原町1番地 株式会社

島津製作所三条工場内

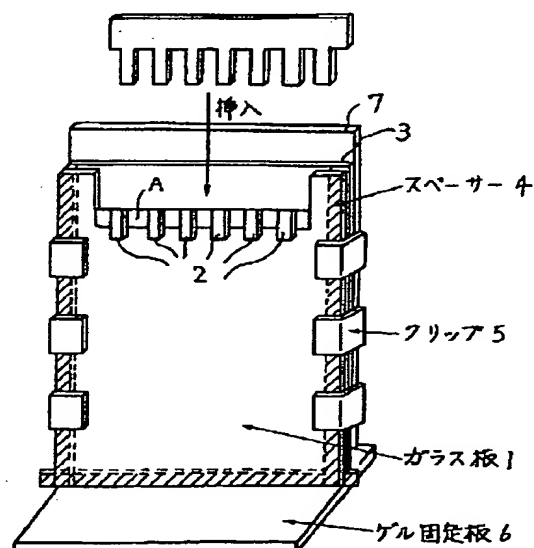
(74) 代理人 弁理士 西岡 義明

(54) 【発明の名称】 ゲル電気泳動装置

(57) 【要約】

【目的】 サンプルウェルの認識が容易で、シャークコームの操作なしにサンプルの注入が行える新規なゲル電気泳動装置を提供することを目的とする。

【構成】 上部にウェル作成コーム7の櫛形状に合致した櫛板2を貼り付けたガラス板1とガラス板3の間にゲル溶液を流した後、ウェル作成コーム7を挿入する。ゲルの重合が完了するとウェル作成コーム7を外すと、櫛板2間に凹部ができ、そこがサンプルウェルとなる。



## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 一対の平板間にゲルを充填した泳動板を備えたゲル電気泳動装置において、前記平板のいずれかの一方端に櫛部を形成したことを特徴とするゲル電気泳動装置。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、ゲル電気泳動装置の特にサンプルウェルの認識が容易な泳動板に関する。

## 【0002】

【従来の技術】 ゲル電気泳動装置は、ゲル中に電荷をもつ物質をおき、電場をかけて、その物質の電荷、分子の大きさおよび形などによって特有の移動をさせ、移動度の差によって物質を分離するもので、核酸、タンパク、ペプチド等の分離に汎用されている。かかるゲル電気泳動装置は、ガラスなどの平板間にポリアクリルアミドなどのゲルを充填して泳動板を構成しており、サンプルの導入部の形状によりシャークコーム方式とノーマルコーム方式に大別される。

【0003】 シャークコーム方式では、先ず一対のガラス板の間にスペーサを介在させ、クリップで固定した後、アクリルアミドゲル溶液を注入し、泳動板を作製する。ゲル溶液の注入に際してはガラス板は垂直あるいは斜めにセットしておき、注入後逆向けのシャークコームをガラス板間に挿入して静置する。この状態が図4

(a) に示すものである。図4 (a) 中41、42はガラス板で、この間にスペーサ43を介在させ、クリップ44で固定してある。また、45がシャークコームであり、水平端面側をガラス板間に挿入し、この状態でガラス板41、42間に注入したゲル溶液を固化（ゲル化）させる。従って、ガラス板41、42間のゲルは端面が水平のものが作成される。なお、図4 (a) 中46はラップ、47は台である。

【0004】 ゲル化が済めば、クリップ44、シャークコーム45を外し、ガラス板41、42を垂直に立て、図4 (b) に示す様に支持枠48をガラス板周囲に嵌めた後、泳動槽49をガラス板上下（下部は図中省略）に設置する。泳動槽49には緩衝液および電極が収容される。また、泳動槽49にはシャークコーム45の櫛側を下にしてガラス板間のアクリルアミドゲルの上面50まで挿入してある。なお、シャークコーム45とガラス板41、42間にはシリンジを挿入できる程度の隙間がある。

【0005】 シャークコーム45の挿入が済めばゲル電気泳動装置の作製は完了し、図4 (c) に示す様にマイクロシリンジ51により、シャークコーム45の櫛面にサンプルを注入する。従って、シャークコーム45の櫛がサンプルウェルの役割を果たし、櫛とアクリルアミドゲルの上面50の接触面がサンプルロードとなる。

【0006】 ノーマルコーム方式では、ゲル作成の際シ

ャークコームの櫛側をガラス板間に挿入し、ゲルに櫛状の凹凸（サンプルウェル）を直接刻印し、そこにサンプルを注入するものである。

## 【0007】

【発明が解決しようとする課題】 しかしながら、シャークコーム方式では、ゲル作成後にシャークコーム45の櫛側を下にしてガラス板間のアクリルアミドゲルの上面50まで挿入するのに熟練を要し、差し込みの具合によって泳動結果の善し悪しが左右された。しかも差し込みの悪い時にはサンプルの横漏れも生じた。

【0008】 一方ノーマルコーム方式では、前記課題はないが、ゲル自体が透明であるため、サンプルウェル位置を見付けにくく、しかもウェル間の仕切りがゲルであるためくずれやすい課題が生じた。更に、両者とも特に薄いゲルの場合、サンプル注入の操作性が悪くなり、自動化の妨げとなっていた。

【0009】 そこで、本発明は、上記課題を解決し、サンプルウェルの認識が容易で、シャークコームの操作なしにサンプルの注入が行える新規なゲル電気泳動装置を提供することを目的とする。

## 【0010】

【課題を解決するための手段】 本発明は、上記課題を解決するため、一対の平板間にゲルを充填した泳動板を備えたゲル電気泳動装置において、前記平板のいずれかの一方端に櫛部を形成したことを特徴とする。

【0011】 ここで、平板とは、ガラス板などの絶縁性板をいい、検出機構を考慮すると透明板が好ましい。ゲルの充填に際しては、平板にスペーサを介在させる。スペーサは、作成したいゲルの厚みの応じて適宜選択され、通常2mm以下の厚さのものが用いられる。

【0012】 充填するゲルとしては、ポリアクリルアミドゲル、アガロースゲル、SDS-ポリアクリルアミドゲルなどを挙げることができるが、ポリアクリルアミドゲルが分離能の点から好ましい。ゲルの濃度は、分離される物質に応じて適宜選択されるが、例えば、アクリルアミドの場合、5～15%の濃度のものが使われる。更に1枚のゲルで出来る限り広い分子量範囲を分離するために、泳動方向に向けて濃度が濃くなるグラジエントゲルを作ってもよい。ゲル溶液の注入は、例えば、ゲル溶液をビーカーに入れ、それを傾けて注入する方法、ゲル溶液の入った容器にノズルを駆動させ、一定量吸引後それを平板間に吐出する方法（自動サンプリング方法）などにより行うことができるが、これらに限定されない。

【0013】 櫛部はいわゆるサンプルウェル位置の目印になるもので、例えば、平板と同じ材質からなる櫛板を平板に貼り付けたり溶着したもの、平板を研磨して櫛状に平板端面を形成したものなどが該当する。櫛板の貼り付け等による場合は、板厚はスペーサの厚み程度が好ましく、また、櫛の数、櫛間はゲル作成時挿入するウェル作成コームの櫛に合わせて調整する。例えば、櫛板の間

にウェル作成コームを挿入するときは、櫛板の数はコームの櫛数±1とし、櫛板の位置にウェル作成コームを挿入するときは櫛板の数はコームの数と同数とする。櫛板の長さはウェル作成コームの櫛と同じ長さかあるいはそれより長くしておく。櫛板の位置はサンプルウェル位置を表すので、そこに例えばクロマトスキャナなどの光走査手段を用いて自動的に位置検出を行ってもよい。かかる自動検出を行う場合には櫛板は各々着色しておくのが良い。着色するときは、異なる色を用いれば、泳動レーンの自動認識も可能となる。

#### 【0014】

【作用】本発明では、平板に設けた櫛部がサンプルウェルの位置を示すので、サンプル注入時シャークコームを平板間に挿入することなく、サンプルの注入位置がわかる。

#### 【0015】

【実施例】本発明に係る装置の実施例を図面に基づいて説明する。図1が本発明にかかる泳動板を作成するための平板（ガラス板）の一例を示す図で、(a)が正面図、(b)が図1(a)のz-z断面の断面図である。図中1が上面側に切り欠きを有する凹状のガラス板で、例えば長さ(h)610mm、幅(W)192mm、厚さ5mm、切り欠き高さ(s)30mmのサイズのものを用いる。その切り欠きはテーパ面Aを有している。このテーパ面Aは後述するゲルが薄い場合、サンプル注入時に使用するシリンジの先端がガラス板とゲルの隙間に入らなくなるのを防止するためのものである。

【0016】2は櫛板で、複数個等間隔にガラス板1に溶着される。櫛板2の材質は例えばガラス（スライドガラス）であり、その厚さは、後述するスペーサの厚みと同じ厚みのもの、例えば250 $\mu$ mあるいは188 $\mu$ mのものを用いることができる。櫛板2の数及設置間隔は、ゲル作成の際、ガラス板間に挿入するウェル作成コームの櫛数及櫛間隔のサイズに対応させるのが好ましい。ウェル作成コームを隣接する櫛板の間に挿入するときは、櫛板数はウェルの櫛数±1である。ここで、櫛板の長さは、例えば15mm、幅2mmである。なお、この櫛板の位置がサンプルウェルの位置に相当する。

【0017】次に図1のガラス板1を用いて泳動板を作成する手法を図2に基づいて説明する。まず、上記ガラス板1及びガラス板1と切り欠き部がない以外同一のガラス板3をきれいに洗浄し乾燥させる。ガラス板の間に図2に示すようにスペーサ4（厚さ250 $\mu$ mあるいは188 $\mu$ m）を介在させてクリップ5で固定する。固定したガラス板1、3は逆T字型のゲル固定板6上に設置する。所定濃度に調製したアクリルアミドゲル溶液をガラ

ス板1、3の間に静かに注ぎ、ウェル作成コーム7を挿入する。ウェル作成コーム7の櫛は櫛板2の間に入るようにする。ウェル作成コーム7の厚さは前述のスペーサ4の厚さと略同一で、櫛の長さはガラス板1に溶着した櫛板2の長さより少し短い。

【0018】ゲルの重合が完了したら、明瞭なゲルのラインが観察されるので、ウェル作成コーム7を抜き、作成したウェルを洗浄する。この時のガラス板1の上部的状態図を図3に示す。図3中Gがゲルラインを示しており、このゲルラインはテーパ面Aの下部で、櫛板2に合致した凹凸を有する。すなわち、櫛板2の設置されている位置のゲルは凸に櫛板間が凹になっており、この櫛板間の凹部がサンプルウェルとなる。

【0019】以上で泳動板の作成が完了するが、それを用いて電気泳動を行うときは、ガラス1、3間の下辺のスペーサを外し、それを泳動装置の緩衝液槽（図示せず）をセットする。緩衝液槽には、例えばTBE緩衝液が入れられ、また電極（Pt電極）が挿入される。サンプルをマイクロシリンジで、前述の様に作成したサンプルウェルに入れる。このとき、ガラス板1にはウェル位置に対向する位置に櫛板2が設置されているので、ウェルの位置が一目でわかる。しかも、例えば、光学手段などで櫛板2の位置を走査して、サンプルウェルの位置を自動認識し、自動的にサンプル注入ができる。自動認識を行う場合には、櫛板2は透明なガラス板ではなく、着色した板が好ましい。

#### 【0020】

【発明の効果】本発明によれば、平板がサンプル区画構造を有するため、ウェル間の仕切りがくずれることがない。また、サンプル注入時シャークコームを操作することがないので、サンプルの横もれがなく、しかも操作が容易になる。また、サンプル区画構造の自動認識が可能となるので、サンプリングの自動化が達成できる。

#### 【図面の簡単な説明】

【図1】本発明で用いるガラス板の一実施例図で、(a)が正面図、(b)が(a)のZ-Z断面図である。

【図2】泳動板を作成するときのガラス板組み立て状態を示す図

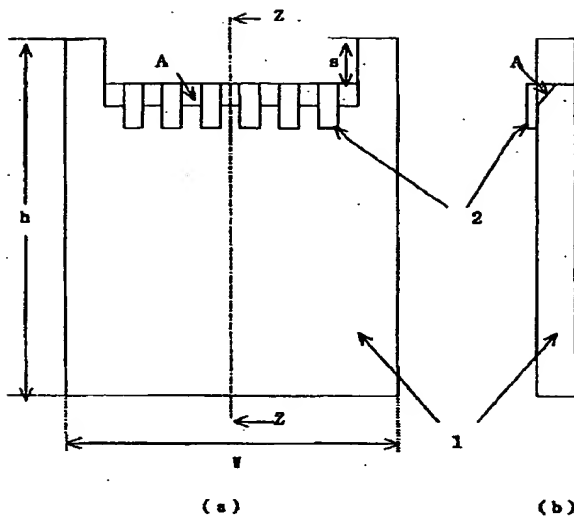
【図3】ゲル作成後の状態を示す図

【図4】シャークコーム方式の説明図

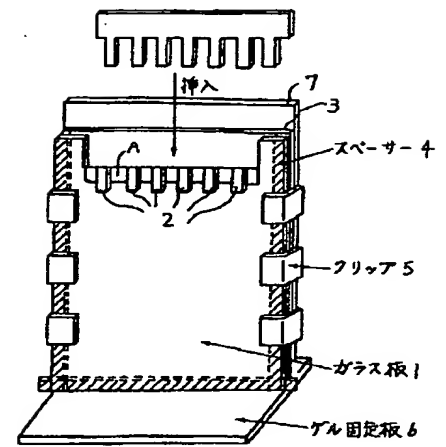
【符号の説明】

- |            |        |
|------------|--------|
| 1、3…ガラス板   | 2…櫛板   |
| 4…スペーサ     | 5…クリップ |
| 7…ウェル作成コーム |        |

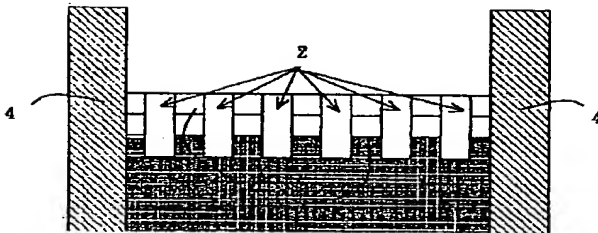
【図 1】



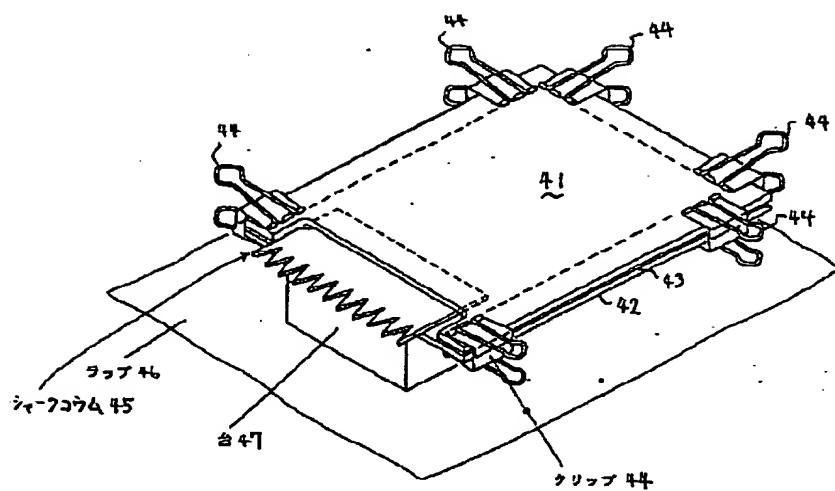
【図 2】



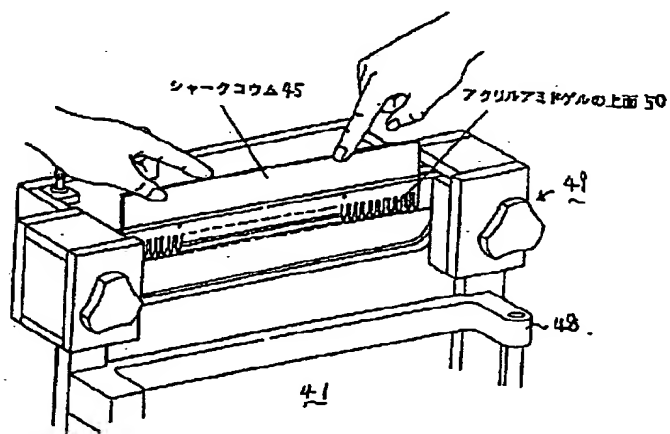
【図 3】



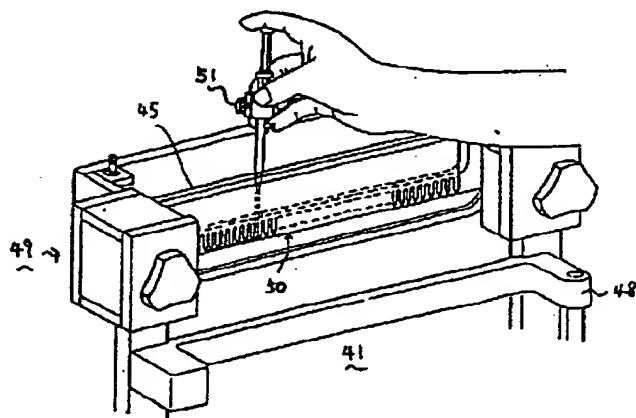
【図4】



(a)



(b)



(c)

Ref. 1: JP 8-233,779/Partial Translation

Title: Gel Electrophoresis Apparatus

In this gel electrophoresis apparatus, an electrophoresis plate having sample wells for electrophoresis (slab gel mold) is prepared. This apparatus has two glass plates 1, 3 and a spacer 4 interposed between them (having a thickness of 250 to 188  $\mu\text{m}$ ). The spacer 4 is affixed between the glass plates 1, 3 by a clamp 5. A plurality of comb plates 2 arranged at equal intervals are welded to the glass plate 1. The thickness of the comb plates 2 is substantially the same as that of the spacer 4. The dimensions are, for example, a length of 15 mm and a width of 2 mm. The glass plate 1 further has a taper surface A as shown in FIG. 1. The glass plate 3 does not have any comb plates 2 or taper surface A. The assembly of the glass plates 1, 3 and the spacer 4 is placed on the inverted T-shaped gel fixing plate 6. A acrylamide gel solution is poured between the glass plates 1, 3 and the well forming comb 7 is inserted between the comb plates 2. The thickness of the well forming comb 7 is substantially the same as the thickness of the spacer 7. The length of the comb teeth of the well forming comb 7 is less than the length of the comb plates 2. After the gel is formed, the well forming comb 7 is withdrawn, whereby sample wells are formed between the comb plates 2. Here, the formation of the wells can be easily understood by the suitable provision of colored comb plates.

Reference number

- 1 ... glass plate
- 2 ... comb plate
- 3 ... glass plate
- 4 ... spacer

- 5 ... clamp
- 6 ... gel fixing plate
- 7 ... well-forming comb